

黄精多糖对老龄大鼠衰老 生理生化指标的影响*

¹ 赵红霞²⁾ ¹ 蒙义文¹⁾ ² 曾庆华 ¹ 陈桃林 ² 董道权 ¹ 蒲 菁

(¹ 中国科学院成都生物研究所 成都 610041)

(² 成都中医药大学 成都 610075)

摘 要

以水提法从黄精(*Polygonatum* sp.)中得到的粗多糖成分(PP)进行了老龄大鼠的衰老生理生化指标测定试验. 两种剂量的 PP 灌喂老龄大鼠 1 mo 后, 测定其 12 项衰老生理生化指标: 胸腺指数和脾脏指数, 外周血淋巴细胞 ANAE 活性, 红细胞、视网膜、晶体核、晶体皮质的 SOD 活性, 心脏、血浆中过氧化脂质含量, 肝脏、肾脏中脂褐质含量及脑中 B 型单胺氧化酶活性. 结果表明: 除胸腺指数、血浆中过氧化脂质含量无显著性变化外, 其他 10 项指标均有明显的改善作用; 试验结果经统计学处理有显著性差异.

关键词 黄精; 多糖; 抗衰老; 大鼠

EFFECTS OF POLYSACCHARISE FROM *POLYGONATUM* ON PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL AGING INDEXES OF AGED RATS

¹Zhao Hongxia²⁾, ¹Meng Yiwen¹⁾, ²Zeng Qinghua, ¹Chen Taolin, ²Dong Daoquan and ¹Pu Qiang

(¹Chengdu Institute of Biology, Academia Sinica, Chengdu 610041)

(²Chengdu University of Chinese Medicine, Chengdu 610075)

Abstract

A polysaccharide(PP) was isolated from *Polygonatum* sp. and its pharmacological experiments showed important physiological activities. Aged rats were fed with PP for a month at the doses of $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ and $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. Compared with control group, the results indicated that PP could improve the aged rats' spleen index, ANAE activity of T lymphocyte, SOD activity of outward erythrocyte, lipofuscin content of liver and kidney, lipid peroxidex content of heart, MAO-B activity of brain, SOD activity of retina, lenticular nucleus and cortex, except thymus index and lipid peroxidex of blood plasma. PP proved to have an obvious anti-aging effect by statistic method.

Key words *Polygonatum*; polysaccharide; anti-aging; rats

黄精为百合科黄精属(*Polygonatum*)植物的根状茎, 为一种常用的中药. 前文^[1]已报道了从黄精属一种(*Polygonatum* sp.)的根状茎提取的黄精多糖(PP)延长果蝇寿命的显著作用; 本文报道 PP 对老龄大鼠衰老生理生化指标的影响试验结果.

收稿日期: 1995-06-20 接受日期: 1995-10-19

* 中国科学院成都地奥科学基金(DASF)资助项目

1) 联系人 (Corresponding author)

2) 现工作单位: 中国科学院生物物理研究所, 北京 100101

1 材料与方 法

1.1 动物与 PP 制备

S. D 一级大鼠 ♂, 15~16 mo 龄, 34 只, 体重 550 ± 100 g (由华西医科大学实验动物中心提供). 按体重随机分为 3 组: 1. CK: 灌喂蒸馏水; 2. 用药组 1 (PP1): 灌喂黄精多糖, $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. 3. 用药组 2 (PP2): 灌喂黄精多糖, $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. PP 制备见文献[1].

1.2 仪器

721 分光光度计, 上海第三分析仪器厂; UV-240 单波长双光束紫外分光光度仪, 日本岛津公司产品; CR-20B2 全自动高速冷冻离心机, Hitachi 公司产品; 650-60 荧光分光光度计, Hitachi 公司产品; 超速匀浆机, Janke & Kunkel IKA WERK 公司产品; TGL 16G 高速台式离心机, 上海医用分析仪器厂; 80-2 离心沉淀器, 上海分析仪器厂.

1.3 方 法

将黄精多糖用蒸馏水配制成所需浓度的药液, CK 灌喂蒸馏水, 每天上午按组灌喂药液 5 mL, 连续 1 mo 后按以下方法进行有关指标测定.

1.3.1 胸腺指数、脾脏指数和 ANAE 活性淋巴细胞百分率 将大鼠断头处死, 立即取出胸腺和脾脏, 用生理盐水洗净, 吸干, 称重, 以脏器湿重 (mg/g) 表示胸腺指数和脾脏指数; 取大鼠肝素抗凝眶静脉血做血涂片, 按文献[2]方法进行酸性 α -萘酚醋酸酯酶染色后, 油镜下计数 100 个淋巴细胞, 计算 ANAE 阳性淋巴细胞百分率.

1.3.2 红细胞内超氧化物歧化酶 (SOD) 活性测定 取肝素抗凝的大鼠眼框静脉血 100 μL , 按文献[3]方法进行.

1.3.3 视网膜、晶状体及晶状体皮质中 SOD 含量的测定 大鼠断头处死, 立即取出两只眼睛分离其视网膜、晶状体核、晶状体皮质, 用生理盐水洗净, 称重, 按文献^[3,13]方法测定 SOD 活性.

1.3.4 肝脏和肾脏脂褐质含量的测定 大鼠断头处死, 立即取出肝脏和肾脏, 用生理盐水洗净, 吸干, 称取肝脏或肾脏 1 g, 按文献^[4,5]方法进行. 脂褐质含量以每克脏器湿重所含相当于标准荧光强度的荧光物质 μg 数计算.

1.3.5 心脏过氧化脂质 (LPO) 含量的测定 大鼠断头处死, 立即取出心脏, 用生理盐水洗净, 吸干, 称重, 按文献^[6,7]方法进行. 根据丙二醛的摩尔吸光系数 ($156 \text{ cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$) 计算心脏过氧化脂质含量水平.

1.3.6 血浆中过氧化脂质 (LPO) 含量的测定 用肝素抗凝的眶静脉血 0.2 mL, 按文献^[8]方法进行 LPO 的提取和测定, 根据丙二醛的摩尔吸光系数 ($156 \text{ cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{L}^{-1}$) 计算血浆中过氧化脂质 (LPO) 的含量.

1.3.7 脑 B 型单胺氧化酶 (MAO-B) 活性的测定 大鼠断头处死, 立即取全脑, 用生理盐水洗净, 吸干, 称重, 按文献^[8,9]方法进行 MAO-B 的提取和测定. 1 个酶活力单位定义为 37 $^{\circ}\text{C}$ 产生 0.01/3h 的光密度改变 ($\Delta D_{242 \text{ nm}}$) 的酶量.

2 结果与讨论

表 1 列出了 PP 对老龄大鼠衰老生理生化指标的影响.

表 1 PP 对老龄大鼠衰老生理生化指标的影响

Table 1 Effects of PP on physiological and biochemical aging indexes of aged rats

测定指标 Indexes	CK	PP1	PP2
胸腺指数 Thymus index ($w(\text{wt})/\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	0.19 ± 0.011	$0.19 \pm 0.015^*$	$0.22 \pm 0.022^*$
脾脏指数 Spleen index ($w(\text{wt})/\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	1.96 ± 0.12	$2.49 \pm 1.20^{**}$	$2.06 \pm 0.12^*$
ANAE 活性 ANAE activity (%, $\bar{x} \pm s$)	67.8 ± 5.06	$80.0 \pm 2.77^{**}$	$77.6 \pm 2.18^{**}$
SOD 活性 SOD activity (U/mL, $\bar{x} \pm s$)	368 ± 15.3	$543 \pm 16.1^{***}$	$493 \pm 19.5^{***}$
肝脏脂褐质含量 Lipofusins content of liver ($w(\text{wt})/\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$)	13.3 ± 0.24	$7.85 \pm 0.27^{***}$	$9.86 \pm 0.20^{***}$
肾脏脂褐质含量 Lipofusins content of kidney ($w(\text{wt})/\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1}$)	7.99 ± 0.49	$6.11 \pm 0.16^{***}$	$7.46 \pm 0.22^*$
心脏过氧化脂质含量 LPO content ($b(\text{LPO})/\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}, \bar{x} \pm s$)	59.69 ± 5.27	$26.40 \pm 1.26^{***}$	$37.00 \pm 1.78^{***}$
血浆过氧化脂质含量 LPO content ($b(\text{LPO})/\text{nmol} \cdot \text{mL}^{-1}, \bar{x} \pm s$)	3.82 ± 0.19	$3.67 \pm 0.17^*$	$3.92 \pm 0.21^*$
脑 MAO-B 含量 MAO-B content of brain (U/mg)	13.52 ± 0.89	$7.86 \pm 0.30^{***}$	$8.97 \pm 0.51^{***}$
视网膜 SOD 活性 SOD activity of retina (U/mg, $\bar{x} \pm s$)	98.07 ± 24.66	$252.9 \pm 18.29^{***}$	$209.7 \pm 6.54^{***}$
晶状体核 SOD 活性 Lenticular nucleus SOD activity	44.9 ± 2.18	$80.6 \pm 2.24^{***}$	$63.2 \pm 7.24^{***}$
晶状体皮质 SOD 活性 Lenticular cortex SOD activity	50.6 ± 9.38	$152.5 \pm 9.007^{***}$	$155.0 \pm 12.0^{***}$

* $P > 0.05$ ** $P < 0.05$ *** $P < 0.01$

说明: 试验中所用老龄大鼠的最终数量(试验中个别大鼠死亡)CK 为 6 只, PP1 为 9 只, PP2 为 10 只

Note: The final numbers of the aged rats used in the experiments (some died during the experiments); CK 6, PP1 9 and PP2 10

2.1 老龄大鼠免疫器官的测定

2.1.1 胸腺、脾脏重量的测定 给老龄大鼠灌喂 PP 1 mo 后, $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$. PP 剂量能显著增加大鼠的脾脏指数, 增加百分率为 45.61%, 对胸腺指数无显著效果; $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ PP 剂量对胸腺指数和脾脏指数均无明显作用。

2.1.2 外周血淋巴细胞酸性非特异性酯酶活性测定(ANAE 活性淋巴细胞测定) 试验结果表明, 一定剂量的 PP 可以提高淋巴细胞 ANAE 阳性率。众所周知, 人的脾重随年龄增长而减轻, 一定剂量的 PP 能明显增加老龄大鼠的脾脏指数, 增强脾脏功能; ANAE 是 T 细胞的标志, 其阳性率增加表明 T 细胞免疫功能增强^[13]. PP 可以增加脾脏指数, 提高 ANAE 阳性淋巴细胞率, 表明 PP 可以通过提高免疫功能来达到抗衰老的目的, 与文献^[13]报道基本一致. 我们的实验结果证明了黄精多糖提高免疫功能的有效成分是多糖类物质。

2.2 外周血红细胞超氧化物歧化酶(SOD)的活性

试验结果表明, PP 两剂量组均能显著提高老龄大鼠红细胞内 SOD 活性, 与对照组比较, PP 可使红细胞内 SOD 活性分别增加 47.74%(PP1 组)和 33.89%(PP2 组)。

2.3 老龄大鼠视网膜、晶状体核、晶状体皮质中 SOD 的活性

试验结果表明,PP 能显著提高老龄大鼠视网膜、晶状体核、晶状体皮质中 SOD 活性,与 CK 比较,二部分中 SOD 活性增长率分别为 157.9%、80.51%、201.2%(PP1);113.8%、40.78%、206.3%(PP2)。

超氧化物歧化酶广泛存在于一切生物体内,是唯一能够特异性清除重要的衰老启动子——超氧自由基(O_2^-)的抗氧化酶,SOD 作为体内 O_2^- 的清除剂,催化超氧阳离子的歧化反应^[14],SOD 这种特殊的功能使其在抗炎、抗衰老、抗辐射性方面的研究具有重要意义。近几年来,国内外有关用中草药提高体内 SOD 活性以达到抗衰老目的的研究取得了明显的进展^[15],但关于单味药黄精多糖在这方面的研究国内外未见报道。我们的试验证明了 PP 可以提高老龄大鼠红细胞和视网膜、晶状体核、晶状体皮质中 SOD 的活性,这对于自由基损伤引起的老年期眼疾病^[16]的预防和治疗具有一定的意义。

2.4 肝脏和肾脏脂褐质含量

试验结果表明,PP 能显著降低肝脏和肾脏内脂褐质含量,与 CK 比较,PP1 组可使其脂褐质含量分别降低 41.02%(肝脏)和 23.53%(肾脏),PP2 组可使肝脏内脂褐质含量分别降低 27.27%,肾脏内脂褐质含量虽有降低,但无统计学意义。由此看来,一定剂量的 PP 可以明显降低老龄大鼠肝脏和肾脏内脂褐质含量,尤以 $100\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ PP 组最为显著。

PP 能明显降低老龄大鼠肝脏、肾脏中脂褐质的含量,具有明显的抗衰老作用。由于脂褐质与 SOD、LPO 的含量密切相关^[17~19],故 PP 的作用机理可能是通过提高 SOD 活性,减少脂质过氧化反应,使 LPO 和脂褐质的水平明显降低,从而减少了因自由基反应所引起的脂类过氧化而对生物膜结构和功能造成的损害。

2.5 心脏过氧化脂质(LPO)的含量

试验结果表明:一定剂量的 PP 可以显著降低老龄大鼠心脏过氧化脂质的含量,与 CK 比较,PP 可使心脏 LPO 含量分别降低 55.78%(PP1 组)和 38.01%(PP2 组)。

2.6 血浆过氧化脂质(LPO)的含量

试验结果表明:老龄大鼠血浆过氧化脂质含量各组间无明显差异,无统计学意义。

过氧化脂质(Lipid Peroxides, LPO)是生物膜中的多价不饱和脂肪酸经氧自由基作用生成的脂质过氧化物,当其含量增多至超过机体防御体系的代偿能力时,就会造成细胞结构及功能的严重损害,使得细胞内多种生物分子及一些酶因脂类过氧化分解产物丙二醛等的作用而改变,因而逐渐衰老^[20],PP 能够降低老龄大鼠心脏的 LPO 含量,说明 PP 对于减少自由基反应引起的脂质过氧化对生物膜结构及功能造成的损害是有益处的,从自由基与衰老的关系来看,PP 具有良好的抗衰老作用,对于心脏功能的调节也具有一定的作用,这与中医传统经验认为黄精常用于治疗心气虚等心的病症相一致。血浆中 LPO 含量无明显变化,可能是心脏和血浆中的 LPO 对于 PP 的敏感性不同造成的结果。

2.7 老龄大鼠脑 B 型单胺氧化酶(MAO-B)的活性

试验结果表明,PP 对老龄大鼠脑 B 型单胺氧化酶活性有明显的抑制作用,与 CK 比较,PP1 组、PP2 组的抑制率分别为 41.86%、33.65%。

MAO 是单胺类递质的降解酶,有催化各种不同类型单胺氧化脱氨的作用。根据对底物选择性及抑制剂敏感程度的不同,哺乳动物体内的 MAO 主要分为 A 型(MAO-A)和 B 型(MAO-B)。研究表明,MAO-B 活性随着增龄而上升,MAO-A 则与年龄无关^[20,21],B 型单胺氧化酶的这

种变化将导致脑内儿茶酚胺类递质含量减少,使大脑的各种思维活动能力下降,自从脑 MAO-B 及自由基与衰老的关系被揭示以来,人们一直在寻找效率高而副作用小的 MAO-B 抑制剂,以达到延缓衰老的目的。从本实验结果看,PP 将是一种良好的抗衰老制剂。PP 可能降低了脑组织中酶的浓度,从而减少了对单胺类神经递质的降解分离作用,而导致单胺类调节作用的加强来达到延缓衰老的目的^[22]。

人体理想的衰老生物指标应具有以下条件:1. 具有可靠性并通用于不同动物和人生物功能衰老变化。2. 能准确地确定随后的存活期及寿命。3. 显著随龄变化。4. 个体间、细胞群之间有重复性^[23]。我们检测的免疫指标、SOD、LPO、MAO-B 及脂褐质均符合上述标准,衰老的自由基学说和免疫学说指出,免疫功能、SOD、LPO、MAO-B、脂褐质与衰老密切相关^[21],因而以上几项指标均可作为衡量衰老的良好标准。对老龄大鼠的各项衰老生理生化指标的显著作用向我们显示了 PP 作为良好的抗衰老制剂的实验依据,为其开发应用提供了较为可靠的理论基础。

参考文献

- 1 赵红霞,蒙义文,蒲蕾. 黄精多糖对果蝇寿命的影响. 应用与环境生物学报. 1995,1(1):74~77
- 2 李影林. 临床医学检验手册. 吉林:吉林科学技术出版社,1987
- 3 程君毅. 超氧化物歧化酶临床测活法. 生化药物杂志. 1988,2:53~55
- 4 周慧萍,陈琼华. 紫菜多糖抗衰老作用的实验研究. 中国药科大学学报. 1989,20(4):231~234
- 5 Fletcher BL, Dillard CJ, Tapdal AL. Measurement of fluorescent lipid peroxidation products in biological system and tissue. *Anal Biochem.* 1973,52:1
- 6 卢盛华,肖以海,张世玲等. 健脑补肾丸强及抗衰老作用研究. 中草药. 1990,21(5):21~24
- 7 Riely CA, Gerald Cohen, Morris Lieberman. Ethane evolution: A new index of lipid peroxidation. *Science.* 1974,183:208~210
- 8 周慧萍,陈琼华. 黑木耳多糖和银耳多糖的抗衰老作用. 中国药科大学学报. 1989,20(5):303~306
- 9 Kan JP, Benedetti MS. Characteristic of the inhibition of rat brain monoamine oxidase *in vivo* by MD780515. *J Neurochem.* 1981,36:1561~1571
- 10 余之彭,任孝衡. 大鼠白内障晶状体中超氧化物酶的研究. 生化药物杂志. 1988,44(2):37~38
- 11 许世凯. 抗衰老药物的药理与应用. 上海中医学院出版社. 1987
- 12 吴梧桐,高向东. 增强机体免疫功能的抗衰老中药. 生化药物杂志. 1990,46(1):7~9
- 13 吴国忠. 传统抗衰老、中成药现代药理学研究进展. 中成药. 1991,13(11):36~37
- 14 方允中. 超氧化物歧化酶的催化作用机理. 生物化学杂志. 1988,(2):19~22
- 15 丁克祥. 抗衰老中药对超氧化物歧化酶的作用. 老年学杂志. 1990,10(2):112~114
- 16 李文杰. 超氧化物歧化酶在治疗超氧阴离子自由基所引起的疾病上的应用. 生化药物杂志. 1988,44(2):9~16
- 17 胡文尧,钟福孙等. 正常人、高脂血症、心血管病血中过氧化脂质和超氧化物歧化酶的分析. 生化药物杂志. 1988,44(2):48~50
- 18 王文杰. 超氧自由基和超氧化物歧化酶. 生理科学进展. 1985,16(2):196~202
- 19 袁勤生. 超氧化物歧化酶. 医药工业. 1985,16(9):33~37
- 20 丁伟,姜葵等. 制首乌对老龄大鼠下丘、桥脑 B 型单胺氧化酶及肝脏过氧化脂质的影响. 老年学杂志. 1993,13(5):306~307
- 21 田清淅,李云兰. 酶与衰老. 老年学杂志. 1993,13(6):372~374
- 22 钱信忠等主编. 中国老年学. 郑州:河南科学出版社,1989
- 23 刘俊达. 衰老的指标及检测意义. 老年学杂志. 1992,12(6):377~378
- 24 宫斌,莫启忠. 补肾中药延缓脑组织衰老的实验研究进展. 老年学杂志. 1993,13(2):124~126